

(19) RÉPUBLIQUE FRANÇAISE  
INSTITUT NATIONAL  
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE  
PARIS

(11) N° de publication :  
(à n'utiliser que pour les  
commandes de reproduction)

2 677 664

(21) N° d'enregistrement national :

91 07232

(51) Int Cl<sup>8</sup> : C 12 M 1/20, 1/12; C 12 Q 1/22

(12)

## DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

(22) Date de dépôt : 13.06.91.

(30) Priorité :

(43) Date de la mise à disposition du public de la  
demande : 18.12.92 Bulletin 92/51.

(56) Liste des documents cités dans le rapport de  
recherche : *Se reporter à la fin du présent fascicule.*

(60) Références à d'autres documents nationaux  
apparentés :

(71) Demandeur(s) : Société Anonyme dite: MILLIPORE  
(S.A.) — FR.

(72) Inventeur(s) : Lemonnier Jean.

(73) Titulaire(s) :

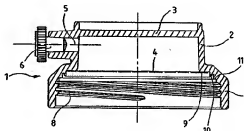
(74) Mandataire : Rinuy Santarelli.

(54) Dispositif et procédé de contrôle microbiologique des liquides sous pression.

(57) L'invention a pour objet un dispositif et un procédé de  
contrôle microbiologique de liquides sous pression.

Un réservoir entièrement clos (1) à la base duquel est  
scellée une membrane filtrante (4) est muni, en amont de  
la membrane, d'une fenêtre de lecture intégrée (3) et, en  
aval de la membrane d'une collerette (7) comportant une  
lèvre d'étanchéité (10) et une partie filetée femelle (8).

Le procédé consiste à visser sur ce réservoir (1) un sup-  
port de filtration à prélever et filtrer l'échantillon à analyser  
puis à substituer à ce support une cassette d'incubation  
pour le développement éventuel dans un incubateur des  
colonies recueillies sur la membrane (4).



FR 2 677 664 - A1



La présente invention concerne un dispositif et un procédé de contrôle microbiologique des liquides sous pression qui permettent de dénombrer les microorganismes vivants contenus dans ces liquides.

5 Dans de nombreuses industries, notamment les industries alimentaires, pharmaceutiques et électroniques, il est important de pouvoir contrôler la qualité microbiologique des fluides sous pression, qu'ils soient en cours de transfert à travers des canalisations ou en  
10 attente dans des cuves de stockage.

Jusqu'à présent, la méthode couramment utilisée consistait à prélever, dans des conditions aseptiques, un certain volume de liquide dans un récipient à l'aide d'une petite prise d'échantillon (petit robinet) et ensuite à  
15 contrôler cet échantillon par la méthode habituelle de filtration ou celle indiquée dans le brevet FR-B-2.558.847 déposé le 31 janvier 1984 par la Société MILLIPORE S.A.

On imagine dès maintenant les risques le "faux positif" encourus du fait de ces prélèvements, transvasements et transferts d'échantillons. De plus, ces diverses manipulations entraînent des pertes de temps et donc des retards dans le résultat des analyses. L'invention qui va être décrite ci-après supprime ces risques puisque la filtration, nécessaire à l'analyse, ainsi que la mise en  
20 contact du filtre avec le milieu nutritif, nécessaire au développement des microorganismes éventuellement retenus sur la membrane, peuvent être faites sur place. Elle simplifie de ce fait les opérations jusque là nécessaires au contrôle microbiologique de ces liquides.

30 Le dispositif de contrôle microbiologique d'un échantillon liquide selon la présente invention est un dispositif, de préférence stérilisé et à usage unique, qui fait appel à une membrane filtrante.

Ce dispositif se caractérise par un réservoir  
35 entièrement clos en matière plastique transparente à la base duquel est scellée une membrane filtrante, ledit

réservoir étant muni, en amont de la membrane, d'une fenêtre de lecture intégrée et, en aval de la membrane, d'une collerette comportant une lèvre d'étanchéité et une partie filetée femelle.

- 5 Sur la partie filetée femelle du réservoir, on peut adapter soit un support de filtration soit une cassette d'incubation, l'un et l'autre en matière plastique.

- 10 Le support de filtration comporte un boîtier muni extérieurement d'une partie filetée mâle coopérant avec la partie filetée femelle du réservoir et un plateau supérieur muni d'un système de canaux de drainage aboutissant à un orifice d'évacuation axial, ledit support de filtration comportant également un cône d'étanchéité
- 15 coopérant avec la lèvre d'étanchéité du réservoir pour éviter toute infiltration ou contamination en provenance de l'extérieur sur le pourtour du support, lors de la filtration de l'échantillon de liquide à analyser.

- La cassette d'incubation comporte un boîtier
- 20 contenant un milieu approprié, liquide ou solide, de culture de microorganismes et muni extérieurement d'une partie filetée mâle coopérant avec la partie filetée femelle du réservoir, ladite cassette pouvant présenter à son extrémité supérieure, une partie conique destinée à
- 25 coopérer avec la lèvre d'étanchéité du réservoir, pour assurer l'étanchéité sur le pourtour aval de la membrane filtrante et éviter ainsi toute déshydratation du milieu de culture lors de l'incubation.

- Le dispositif selon l'invention présente
- 30 l'avantage de maintenir la membrane filtrante dans un réservoir parfaitement clos, donc à l'abri de toute contamination exogène pouvant fausser les résultats de l'analyse microbiologique à effectuer.

- Il permet également de prélever l'échantillon
- 35 de liquide à analyser, sous des pressions pouvant aller

jusqu'à  $6.10^5$  Pa, ce qui n'était le cas d'aucun dispositif antérieurement connu.

Et il permet enfin d'effectuer directement et rapidement l'incubation des microorganismes éventuellement  
5 recueillis sur la membrane de filtration, sans aucune manipulation de cette dernière.

La présente invention a également pour objet un procédé de contrôle microbiologique d'un échantillon liquide à l'aide d'une membrane filtrante qui comprend  
10 successivement l'introduction de l'échantillon à analyser dans un dispositif comprenant le réservoir ci-dessus défini vissé sur un support de filtration, la mise en pression ou en dépression du réservoir pour terminer la filtration, le remplacement du support de filtration par une cassette  
15 d'incubation vissée dans le réservoir et une incubation de l'ensemble constitué par le réservoir et la cassette, en position inversée, dans un incubateur.

Il convient de noter qu'un tel procédé, indépendamment de sa simplicité et de sa rapidité, permet  
20 de contrôler la qualité microbiologique d'un liquide sous pression dans des conditions maximales de fiabilité, car il évite toute manipulation tant de l'échantillon de liquide prélevé que de la membrane recueillant les germes éventuellement présents et à détecter.

25 L'invention va maintenant être décrite à l'aide des dessins ci-joints où :

- la figure 1 représente une coupe en élévation du réservoir du dispositif selon l'invention ;
- la figure 2 est une vue de dessus du  
30 réservoir représenté sur la figure 1 ;
- la figure 3 est une coupe en élévation du support de filtration destinée à coopérer avec le réservoir des figures 1 et 2 ;
- la figure 4 est une de dessus du support de  
35 filtration représenté sur la figure 3 ;

- la figure 5 est une coupe en élévation d'une cassette d'incubation, pour milieu de culture liquide, destinée à coopérer avec le réservoir des figures 1 et 2 ;
- la figure 6 est une coupe en élévation d'une  
5 autre cassette d'incubation, pour milieu de culture solide, destinée à coopérer avec le réservoir des figures 1 et 2 ;
- la figure 7 est une coupe d'une première forme de réalisation de la lèvre d'étanchéité du dispositif selon l'invention ;
- 10 - la figure 8 est une coupe d'une deuxième forme de réalisation de la lèvre d'étanchéité du dispositif selon l'invention ;
- la figure 9 est une vue d'une prise d'échantillon de liquide à contrôler avec le dispositif selon  
15 l'invention, en cours de filtration.
- la figure 10 est une vue montrant la fin de la filtration d'une prise d'échantillon par mise sous pression aseptiquement du dispositif selon l'invention à l'aide d'une seringue ;
- 20 - la figure 11 est une vue montrant la fin de la filtration d'une prise d'échantillon par pompage du reliquat de liquide à l'aide d'une seringue ;
- les figures 12 et 13 sont des vues, partiellement en coupe, du dispositif selon l'invention en  
25 position inversée dans un incubateur et comportant une cassette d'incubation pour milieu en culture respectivement liquide ou solide ;
- les figures 14 et 15 sont des vues montrant comment on peut perforer le réservoir du dispositif selon  
30 l'invention pour accéder aux colonies en vue de leur prélèvement et de leur identification ;
- la figure 16 est une vue montrant le prélèvement d'une colonie sur la membrane du dispositif selon l'invention ;
- 35 - enfin la figure 17 est une vue montrant comment on peut poursuivre l'incubation du dispositif selon

l'invention, après prélèvement d'une colonie.

Le réservoir (1), représenté sur les figures 1 et 2, comporte un corps (2), généralement cylindrique, fermé, à sa partie supérieure, par une fenêtre de lecture (3) et, à sa partie inférieure, par une membrane filtrante (4), situé dans un plan parallèle à celui de la fenêtre de lecture.

Le corps cylindrique (2), est muni d'un orifice d'entrée (5) latérale, de type Luer femelle, pouvant être fermé par un bouchon Luer mâle (6) et dont l'axe est parallèle au plan de la membrane (4).

Une collerette tubulaire (7), de diamètre supérieur à celui du corps cylindrique (2), prolonge ce dernier en aval de la membrane filtrante et est muni intérieurement d'une partie filetée femelle (8), pouvant consister notamment en trois départs de filets femelles pour assurer un serrage rapide sur un élément amovible muni de filets mâles correspondants.

La partie de raccordement entre le corps cylindrique (2) et la collerette tubulaire (7) comprend successivement d'amont vers l'aval un épaulement (9), une lèvre d'étanchéité (10) et une butée de serrage (11).

L'épaulement (9), en forme de couronne circulaire de même axe que celui du corps (2), délimite la base du réservoir (1) sur laquelle est scellée la membrane filtrante (4), dans un plan perpendiculaire à l'axe commun du corps (2) et de la collerette (7).

La lèvre d'étanchéité (10) se présente, dans la réalisation représentée sur la figure 1, sous forme d'une languette circulaire, de diamètre intermédiaire entre ceux du corps (2) et de la collerette (7) et de même axe que ces derniers, s'étendant axialement avec des faces interne et externe.

Enfin la butée de serrage (11), également en forme de couronne circulaire de même axe que le corps cylindrique (2), a pour but d'éviter l'écrasement de

l'extrémité circulaire de la membrane filtrante, lors du vissage d'un élément amovible sur la partie filetée (8) de la collerette.

Comme le montre la figure 1, la fenêtre de lecture (3) est dégagée de toute obstruction afin de ne pas masquer la vision de la membrane filtrante (4).

Le réservoir (1) est constitué en une matière plastique qui doit être transparente, résister à la pression et pouvoir être perforé sans rupture de préférence latéralement, au cas où on souhaiterait prélever une colonie microbienne, qui s'est développée, après incubation, sur la membrane filtrante.

La demanderesse a trouvé qu'une matière plastique convenant pour le réservoir était un copolymère de méthacrylate de méthyle, de butadiène et de styrène.

La membrane filtrante (4) est connue et en général en matière plastique de type ester de cellulose ayant un diamètre de pore qui varie selon la taille des microorganismes à retenir. Pour les microorganismes couramment recherchés, le diamètre des pores généralement utilisé est de 0,45 micromètre. D'autres matériaux filtrants, hydrophiles ou hydrophobes, peuvent être utilisés pour la rétention d'autres microorganismes.

Le support de filtration (12), qui vient compléter le dispositif selon l'invention, est représenté sur les figures 3 et 4.

Il comporte un boîtier (13), généralement cylindrique, muni extérieurement d'une partie filetée mâle (14), pouvant consister par exemple en trois filets mâles, coopérant avec la partie filetée femelle (8) de la collerette (7) du réservoir (1), et éventuellement d'organes de préhension (30).

Le boîtier (13) est fermé à sa partie supérieure par un plateau (15), comprenant un rebord périphérique circulaire (16) et un système de canaux de drainage

circulaires (17) et axiaux (18) aboutissant à un orifice d'évacuation axial (19).

Le rebord périphérique (16) se prolonge axialement légèrement au-delà de la face supérieure du plateau (15) comme le montre plus particulièrement la fig. 3, de façon à former une cavité circulaire centrale servant à la réception d'un intercalaire aseptique poreux amovible (20) en forme de disque qui repose sur le sommet des canaux de drainage.

La face supérieure de cet intercalaire (20), destiné à entrer en contact avec la totalité de la surface inférieure filtrante de la membrane (4) pour la supporter, lorsque le support (12) est vissé dans le réservoir (1), se trouve au même niveau que la face supérieure du rebord périphérique (16), qui comporte quelques fines entailles radiales (21), pour faciliter l'évacuation éventuelle de liquide infiltré entre le pourtour aval de la membrane et la surface (16), par l'intercalaire aseptique poreux (20).

La partie de raccordement entre le boîtier fileté (13) et le plateau (15) du support de filtration (12), comporte dans la forme de réalisation représentée sur la figure 1 et comme le montre plus précisément la figure 7, un épaulement extérieur (22), une rigole circulaire (23) et un cône d'étanchéité (24) délimitant le rebord périphérique (16).

Lors du vissage du support de filtration (12) à l'intérieur de la collerette du réservoir (1), l'épaulement (22) vient en contact avec la butée (11) pour éviter l'écrasement de la membrane circulaire (non représentée sur la figure 7), et le cône d'étanchéité (24) vient déformer la face interne de la lèvre d'étanchéité (10) pour assurer une étanchéité parfaite entre support (12) et réservoir (1).

Dans une autre forme de réalisation représentée sur la figure 8, l'épaulement extérieur (22) du support de filtration (12), non seulement vient en contact avec la



butée (11) du réservoir (1) mais il comporte également un cône d'étanchéité (24) qui vient déformer la face externe, et non plus interne, de la lèvre d'étanchéité (10) pour assurer une étanchéité parfaite, lors du vissage du support 5 (12) dans le réservoir (1).

Le mode de réalisation représenté sur la figure 8 permet de réaliser des prélèvements d'échantillons de liquides à analyser à des pressions supérieures à celles pouvant être utilisées avec la mode de réalisation de la 10 figure 7 et qui peuvent aller jusqu'à  $6.10^5$  Pa, étant donné que toute augmentation de la pression du liquide à filtrer a tendance à augmenter l'étanchéité du réservoir sur le cône d'étanchéité du support de filtration.

La matière plastique du support de filtration 15 (12) peut être par exemple un polymère styrénique comme une résine acrylonitrile-butadiène-styrène et l'intercalaire (20) peut être par exemple en polyéthylène fritté.

La cassette d'incubation (25) destinée à compléter le dispositif selon l'invention peut être une 20 cassette en matière plastique pour milieu de culture liquide (Fig. 5) ou solide (Fig. 6).

Cette cassette (25) comporte un boîtier (26), généralement cylindrique, contenant un milieu de culture (27) approprié au microorganisme à détecter et qui est muni 25 extérieurement d'une partie filetée mâle (28), pouvant coopérer avec la partie filetée femelle (8) de la colle-rette (7) du réservoir, et constituée, par exemple, par trois départs de filets mâles pour l'un et femelles pour l'autre, afin d'assurer un serrage rapide.

Le boîtier (26) peut également comporter des 30 organes de préhension (29) et à sa partie supérieure, un épaulement (37) destiné à entrer en contact avec la butée (11), lors du vissage de la cassette (25) dans le réservoir (1).

Dans la cassette pour milieu de culture liquide 35 représentée sur la fig. 5, le boîtier (26) comporte à sa

partie supérieure un support convexe vers l'extérieur (31) et d'une seule pièce avec le boîtier.

Ce support convexe (31) est muni d'un système de canaux d'alimentation reliés à un orifice d'alimentation axial (32), clos par un bouchon amovible (36).

Le support convexe (31) est légèrement en retrait par rapport à son rebord périphérique pour former une cavité circulaire centrale, où repose un tampon absorbant (33) imbibé du milieu liquide de culture approprié, et qui peut être protégé par un papier de protection pelable (34) collé sur ledit rebord périphérique.

Le support convexe (31) est relié à l'extrémité supérieure du boîtier (26) par une partie conique (35), destinée à coopérer avec la lèvre d'étanchéité (10) du réservoir (1), afin d'éviter un assèchement de la périphérie du milieu liquide de culture de la cassette, vissée dans le réservoir, lors de l'incubation.

La cassette d'incubation pour milieu de culture solide, représentée sur la figure 6 ne comporte pas de partie conique d'étanchéité, mais son boîtier (26) est fermée à chacune de ses extrémités par un couvercle amovible (38 et 39).

Le couvercle (38), situé à l'opposé de l'épaulement (37), sert au remplissage de la cassette et le couvercle (39), de forme convexe vers l'extérieur, est retiré lors du vissage de la cassette (25) dans le réservoir (1).

La matière plastique constituant les corps des cassettes peut être du polystyrène et celle des couvercles du polypropylène.

Le procédé selon l'invention consiste, après remplissage des cassettes avec le milieu de culture convenable, à effectuer les opérations nécessaires au contrôle microbiologique directement à l'emplacement du prélèvement de l'échantillon liquide à contrôler.

On commence par visser un réservoir (1) sur un support de filtration (12) jusqu'à la butée d'étanchéité ; le réservoir peut alors supporter une pression de filtration du liquide à analyser supérieure à  $3.10^5$  Pa, dans la  
5 mode de réalisation représenté sur les figures 1, 3 et 7 et à  $6.10^5$  Pa, dans la mode de réalisation de la figure 8.

On retire alors le petit bouchon Luer mâle (6) et on connecte le réservoir (1) à la prise d'échantillon.

On ouvre la valve de la prise d'échantillon et  
10 on laisse filtrer le volume désiré de liquide à contrôler; en recueillant le volume de l'échantillon dans un bécher situé en aval du support de filtration (voir fig. 9).

On ferme la valve de prise d'échantillon en fin de prélèvement et on retire l'unité de filtration.

15 On termine la filtration soit en pressurant aseptiquement le réservoir à l'aide d'une seringue (40) munie d'un filtre d'air, comme indiqué sur la fig. 10, ce qui a l'avantage de chasser tout le liquide présent en amont, en aval et dans les pores de la membrane et ce qui  
20 évite tout risque de dilution du milieu de culture en aval de la membrane filtrante, soit en effectuant une dépression par pompage du reliquat de liquide à l'aide d'une seringue (40), comme indiqué sur la figure 11.

Le prélèvement de l'échantillon étant terminé,  
25 on dévisse le support de filtration (12) et on visse à sa place l'une des cassettes (25) contenant le milieu de culture désiré.

Il suffit alors de placer l'ensemble de l'unité constituée par le réservoir (1) et la cassette (25), en  
30 position inversée, dans un incubateur à la température et pendant le temps nécessaires au développement des colonies provenant des éventuels microorganismes recueillis sur la membrane filtrante (4), comme montré sur les figures 12 et 13.

35 Il convient de noter que le dispositif selon la présente invention permet également de prélever un

échantillon de produit à analyser à l'aide d'une source de vide connectée au support de filtration (12), telle que seringue ou fiole à vide ; cette alternative n'existait pas avec les dispositifs antérieurement connus.

- 5           Après développement des colonies, on peut procéder soit à leur comptage, comme dans une boîte de Pétri, étant donné que la fenêtre de lecture (3) est parfaitement dégagée soit procéder à l'identification de l'une d'entre elles par prélèvement, en perforant le
- 10 réservoir à l'aide d'un appareil (41) adapté à cet effet afin de pouvoir prélever la colonie souhaitée avec une anse de platine (42). Le réservoir étant placé dans un support, une pointe coupante de section triangulaire pénètre parallèlement à la membrane filtrante dans les parois du
- 15 corps cylindrique (2) du réservoir (1) en créant ainsi un trou sans enlèvement de plastique et très proprement (voir les figures 14 et 15).

- On peut, si on le désire, créer plusieurs trous pour rendre plus accessibles les colonies situées sur la
- 20 surface de la membrane filtrante. Il suffit alors d'introduire l'anse de platine (42) à travers le trou le mieux placé pour effectuer le prélèvement (figure 16). Enfin, si l'on souhaite poursuivre l'incubation, il suffira d'envelopper l'unité de contrôle constituée par le réservoir et
- 25 la cassette d'incubation dans un film approprié (43) afin d'isoler le réservoir de l'air extérieur (voir figure 17).

REVENDECATIONS

1. Dispositif de contrôle microbiologique d'un échantillon liquide à l'aide d'une membrane filtrante, de préférence prestérilisé et à usage unique, caractérisé en ce qu'il comprend un réservoir (1) entièrement clos en matière plastique transparente à la base duquel est scellée une membrane filtrante (4), ledit réservoir étant muni, en amont de la membrane, d'une fenêtre de lecture intégrée (3) et, en aval de la membrane, d'une collerette (7) comportant une lèvre d'étanchéité (10) et une partie filetée femelle (8).

2. Dispositif selon la revendication 1, caractérisé en ce que le réservoir (1) comporte, en amont de la membrane filtrante (4) une entrée de liquide se présentant sous forme d'un orifice (5) d'axe parallèle au plan de cette membrane (4) et pouvant être obturé par un bouchon amovible (6).

3. Dispositif selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le réservoir (1) comporte une butée de serrage (11) située entre la lèvre d'étanchéité (10) et la partie filetée femelle (8).

4. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que la lèvre d'étanchéité (10) consiste en une languette circulaire dont la face interne assure l'étanchéité par coopération avec une partie conique d'un élément amovible pouvant se visser dans la partie filetée femelle du réservoir.

5. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que la lèvre d'étanchéité (10) consiste en une languette circulaire dont la face externe assure l'étanchéité par coopération avec une partie conique d'un élément amovible pouvant se visser dans la partie filetée femelle du réservoir.

6. Dispositif selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que la partie

filetée (8) de la collerette (7) du réservoir (1) comporte trois départs de filets femelles pour assurer un serrage rapide.

7. Dispositif selon l'une quelconque des  
5 revendications précédentes, caractérisé en ce que le réservoir (1), dont la fenêtre de lecture intégrée (3) constituant la face supérieure et située dans un plan parallèle à celui de la membrane filtrante (4), est dégagée de toute obstruction afin de ne pas masquer la vision de la  
10 membrane, peut être perforé, de préférence latéralement, par enfoncement et rendre ainsi accessible le dessus de la membrane filtrante pour prélèvement éventuel de colonies microbiennes à l'aide d'une anse (42).

8. Dispositif selon l'une quelconque des  
15 revendications précédentes, caractérisé en ce que la matière plastique transparente du réservoir (1) est un copolymère de méthacrylate de méthyle, de butadiène et de styrène.

9. Dispositif selon l'une quelconque des  
20 revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il comprend un support de filtration (12) en matière plastique comportant un boîtier (13) muni extérieurement d'une partie filetée mâle (14) coopérant avec la partie filetée femelle (8) du réservoir (1) et un plateau supérieur (15) muni d'un  
25 système de canaux de drainage (17, 18) aboutissant à un orifice d'évacuation axial (19), ledit support de filtration (12) comportant également un cône d'étanchéité (24) coopérant avec la lèvre d'étanchéité (10) du réservoir (1) pour éviter toute infiltration ou contamination en  
30 provenance de l'extérieur sur le pourtour du support lors de la filtration d'un échantillon de liquide à analyser.

10. Dispositif selon la revendication 9, caractérisé en ce que le rebord périphérique (16) du plateau supérieur (15) du support de filtration (12) se  
35 prolonge axialement au-delà de la face supérieure du plateau (15) pour former une cavité circulaire centrale

servant à l'insertion d'un intercalaire aseptique poreux amovible (20), reposant sur le sommet des canaux de drainage (17, 18) et destiné à entrer en contact avec la totalité de la surface filtrante de la membrane (4) de  
5 réservoir (1).

11. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 9 ou 10, prise en combinaison avec la revendication 6, caractérisé en ce que la partie filetée (14) du support de filtration (12) comporte trois départs  
10 de filets mâles pour assurer un serrage rapide sur trois filets femelles (8) correspondants du réservoir (1).

12. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 9 à 11, caractérisé en ce que la matière plastique du support de filtration (12) est un polymère  
15 styrénique et notamment une résine acrylonitrile-butadiène-styrène.

13. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, caractérisé en ce qu'il comprend une cassette d'incubation en matière plastique (25) comportant  
20 un boîtier (26) contenant un milieu approprié de culture de microorganismes (27) et muni extérieurement d'une partie filetée mâle (28) coopérant avec la partie filetée femelle (8) du réservoir (1).

14. Dispositif selon la revendication 13,  
25 caractérisé en ce que la cassette d'incubation (25) comporte un support convexe vers l'extérieur (31) recevant un tampon absorbant (33) imprégné de milieu de culture liquide, pouvant être protégé par un papier de protection pelable (34) et en ce que l'extrémité supérieure du boîtier  
30 (26) de la cassette présente une partie conique (35) destinée à coopérer avec la lèvre d'étanchéité (10) du réservoir (1) pour assurer l'étanchéité sur le pourtour aval de la membrane filtrante (4) et éviter ainsi toute déshydratation du milieu de culture (27) lors de l'incuba-  
35 tion.

15. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 13 à 14, caractérisé en ce que la matière plastique de la cassette d'incubation est du polystyrène.

16. Procédé de contrôle microbiologique d'un  
5 échantillon de liquide à l'aide d'une membrane filtrante (4), caractérisé en ce qu'il comprend successivement l'introduction de l'échantillon à analyser dans un dispositif faisant l'objet de l'une quelconque des revendications 1 à 8 dans lequel le réservoir (1) est vissé  
10 à étanchéité sur un support de filtration (12), la mise en pression ou en dépression du réservoir (1) pour terminer la filtration, le remplacement du support de filtration (12) par une cassette d'incubation (25) vissé à étanchéité dans le réservoir (1) et une incubation de l'ensemble constitué  
15 par le réservoir et la cassette, en position inversée, dans un incubateur.



Fig.1

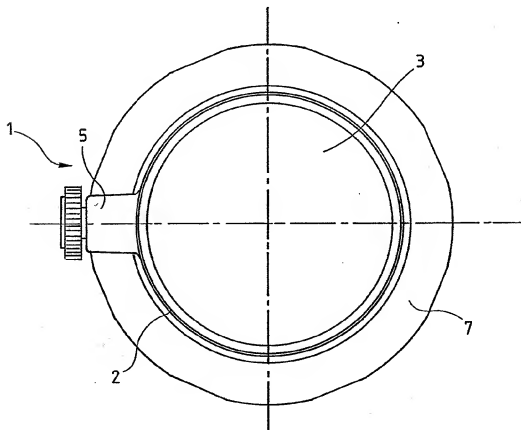
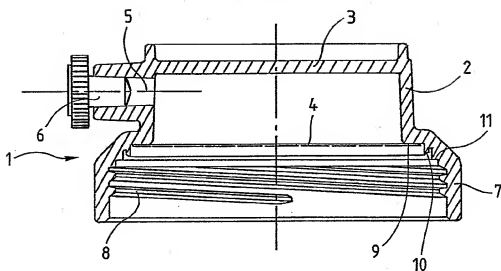


Fig.2

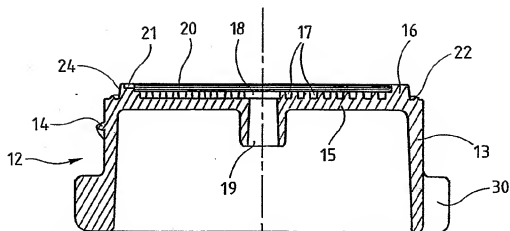


Fig.3

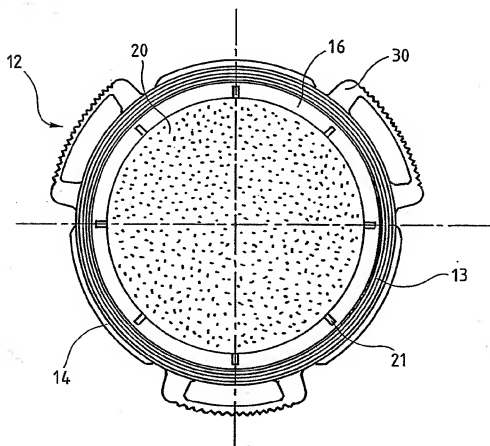


Fig.4

3/10

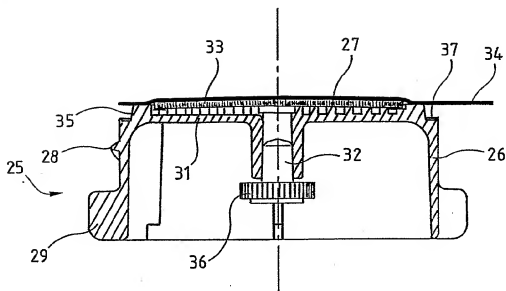


Fig.5

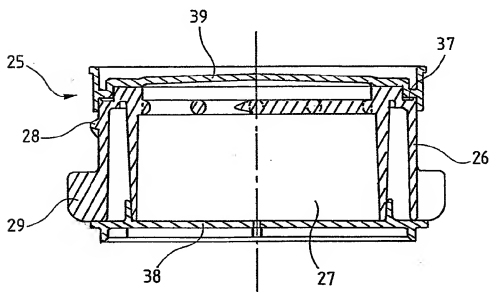
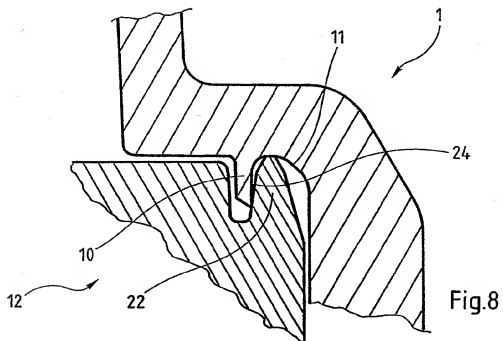
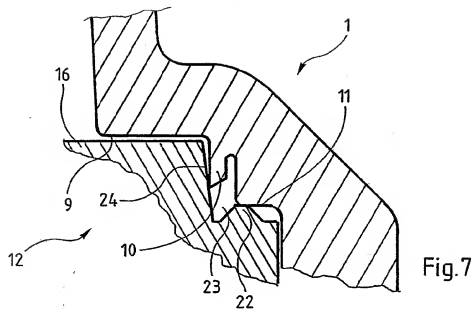


Fig.6

4/10



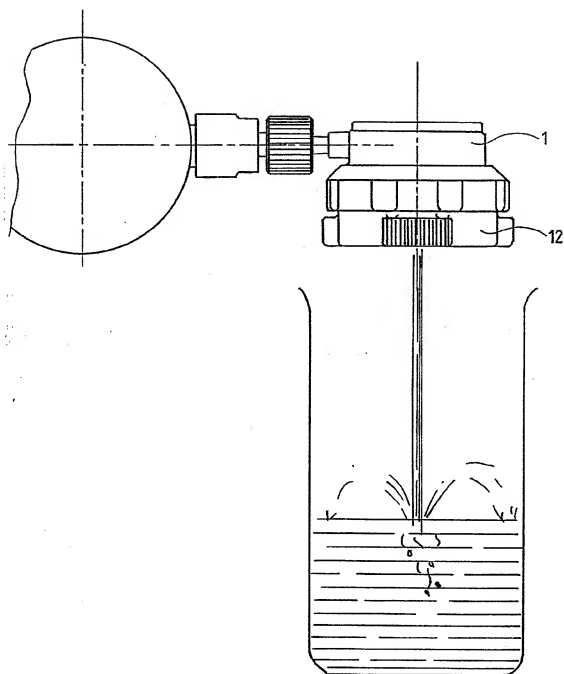


Fig.9

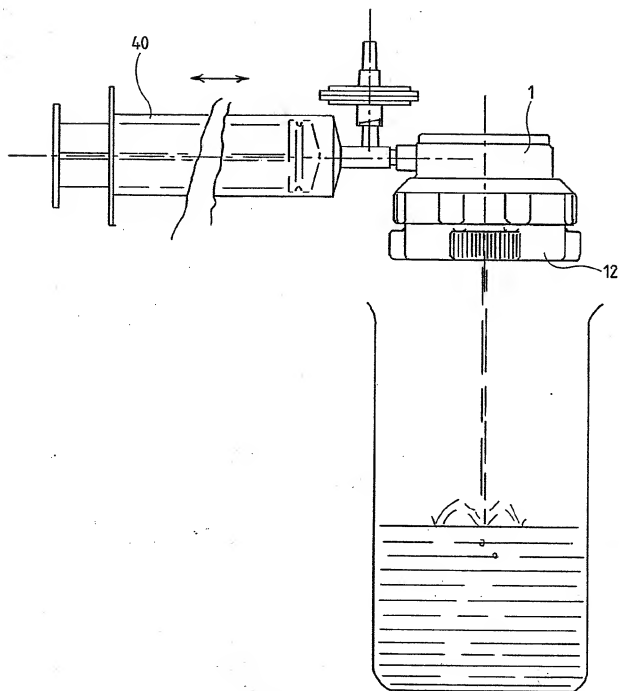


Fig.10

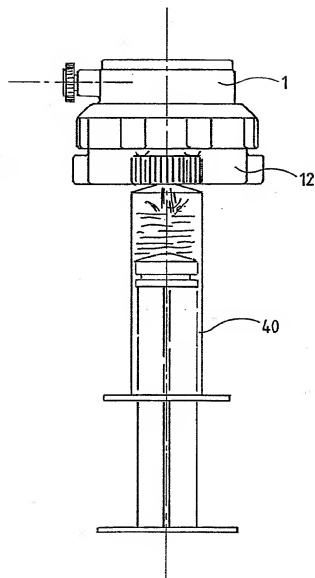


Fig.11

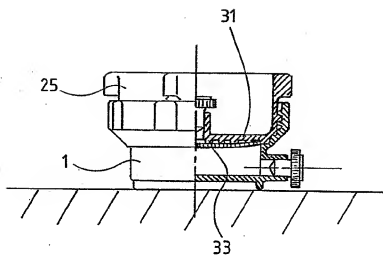


Fig.12

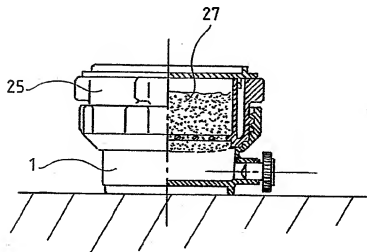


Fig.13



9/10

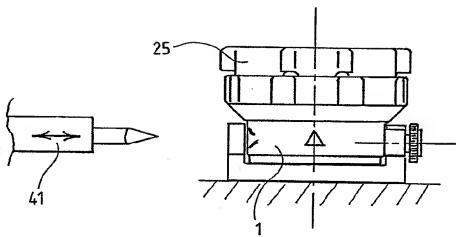


Fig.14

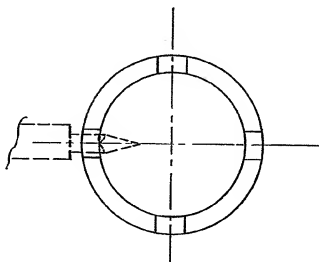


Fig.15

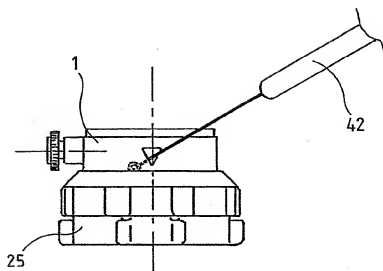


Fig.16

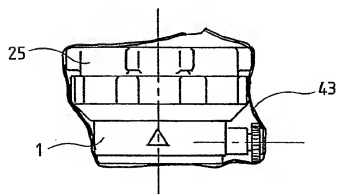


Fig.17

**INSTITUT NATIONAL**  
**de la**  
**PROPRIETE INDUSTRIELLE**

## RAPPORT DE RECHERCHE

établi sur la base des dernières revendications  
déposées avant le commencement de la recherche

FR 9107232  
FA 457423

[illegible]

(19)



Europäisches Patentamt  
European Patent Office  
Office européen des brevets



(11)

**EP 0 536 004 B1**

(12)

**EUROPEAN PATENT SPECIFICATION**

(45) Date of publication and mention  
of the grant of the patent:  
**02.04.1997 Bulletin 1997/14**

(51) Int Cl.<sup>6</sup>: **C12M 1/34, C12M 3/00,  
C12M 1/12**

(21) Application number: **92401582.9**

(22) Date of filing: **09.06.1992**

(54) **Device and process for the microbiological testing of pressurized liquids**

Verfahren und Anlage für die mikrobiologische Untersuchung von Flüssigkeiten

Procédé et dispositif de contrôle microbiologique de liquides pressurisés

(84) Designated Contracting States:  
**CH DE FR GB IT LI**

(30) Priority: **13.06.1991 FR 9107232**

(43) Date of publication of application:  
**07.04.1993 Bulletin 1993/14**

(73) Proprietor: **MILLIPORE S.A.  
F-67120 Molshelm (FR)**

(72) Inventor: **Lemonnier, Jean  
F-78110 Le Vesinet (FR)**

(74) Representative: **Rinuy, Santarelli  
14, avenue de la Grande Armée  
75017 Paris (FR)**

(56) References cited:  
**EP-A- 0 122 581 EP-A- 0 180 165  
EP-A- 0 307 048 DE-C- 839 245  
US-A- 4 670 398**

Note: Within nine months from the publication of the mention of the grant of the European patent, any person may give notice to the European Patent Office of opposition to the European patent granted. Notice of opposition shall be filed in a written reasoned statement. It shall not be deemed to have been filed until the opposition fee has been paid. (Art. 99(1) European Patent Convention).

## Description

This invention concerns a device and a process for the microbiological testing of pressurized liquids, which serves to count the living microorganisms contained in these liquids.

In many industries, including the food, pharmaceutical and electronics industries, it is important to be able to check the microbiological quality of the pressurized fluids, whether during transfer through lines or whether kept in storage tanks.

So far, the standard method used was to sample, in aseptic conditions, a certain volume of liquid in a receptacle with the aid of a small sample tap (small valve) and then to test this sample by the usual filtration method or the method described in Patent No. FR-B-2.558.847 filed on 31 January 1984 by the company Millipore SA.

It is easy to imagine the risks of 'false positives' incurred by these samples and various transfers of samples. Moreover, these different operations waste time and cause delays in receiving the results of the analyses. The invention described below eliminates these risks, because the filtration, necessary for the analysis, as well as the placing of the filter in contact with the nutrient medium, necessary for the development of the microorganisms that are retained on the membrane, can be carried out on the spot. This accordingly simplifies the operations hitherto necessary for the microbiological testing of these liquids.

The devices for the microbiological testing of a pressurized liquid sample according to this invention is a device, preferably pre-sterilized and for single use only, which makes use of a filter membrane.

This device is characterized by a completely closed container of transparent plastic, at the base of which a filter membrane is sealed, the said container being fitted, upstream from the membrane, with a built-in reading window and, downstream from the membrane, a flange with a lip seal and a female threaded part.

A filtration support or an incubation cartridge, both of plastic, can be fitted to the female threaded part of the container.

The filtration support has a chamber fitted externally with a male threaded part cooperating with the female threaded part of the container and an upper plate fitted with a system of drainage channels terminating in an axial outlet orifice, the said filtration support also comprising a sealing cone cooperating with the lip seal of the container to prevent any infiltration or contamination from the exterior on the periphery of the support, during the filtration of the liquid sample to be analyzed.

The incubation cartridge comprises a chamber containing a suitable liquid or dry microorganism culture medium, fitted externally with a male threaded part cooperating with the female threaded part of the container, the said cartridge possibly exhibiting, at its upper end, a conical part designed to cooperate with the lip seal of the container, to guarantee the seal on the downstream

periphery of the filter membrane and thus to prevent any dehydration of the culture medium during incubation.

The device according to the invention offers the advantage of maintaining the filter membrane in a perfectly closed container, hence sheltered from any exogenous contamination liable to distort the results of the microbiological analysis to be performed.

It also serves to take the liquid sample to be analyzed, under pressures up to  $6 \cdot 10^5$  Pa, which was not the case of any previously known device.

And it also serves to carry out the incubation of any microorganisms collected on the filtration membrane directly and rapidly, without any handling of the membrane.

The present invention is also designed for a process of microbiological testing of a pressurized liquid sample using a filter membrane, which comprises in succession the introduction of the sample to be analyzed in a device comprising the container defined above screwed to a filtration support, the positive or negative pressurization of the container to terminate the filtration, the replacement of the filtration support by an incubation cartridge screwed into the container, and incubation of the assembly consisting of the container and the cartridge, in the reversed position, in an incubator.

It should be noted that such a process, independent of its simplicity and its speed, serves to check the microbiological quality of a pressurized liquid with maximum reliability, because it avoids any handling of the liquid sample or of the membrane collecting any germs present and to be detected.

The invention will now be described with the aid of the enclosed drawings, where:

- Figure 1 shows an elevation section of the container of the device according to the invention,
- Figure 2 is a plan view of the container shown in Figure 1,
- Figure 3 is an elevation section of the filtration support designed to cooperate with the container of Figures 1 and 2,
- Figure 4 is a plan view of the filtration support shown in Figure 3,
- Figure 5 is an elevation section of an incubation cartridge, for liquid culture medium, designed to cooperate with the container in Figures 1 and 2,
- Figure 6 is an elevation section of another incubation cartridge, for dry culture medium, designed to cooperate with the container in Figures 1 and 2,
- Figure 7 is a cross-section of a first embodiment of the lip seal of the device according to the invention,
- Figure 8 is a cross-section of a second embodiment of the lip seal of the device according to the invention,
- Figure 9 is a view of a liquid sampling to be tested with the device according to the invention, during filtration,
- Figure 10 is a view showing the end of filtration of

a sample by aseptically pressurizing the device according to the invention using a syringe.

Figure 11 is a view showing the end of filtration of a sample by pumping of the remnant of the liquid using a syringe.

Figures 12 and 13 are views, partially sectional, of the device according to the invention in the reversed position in an incubator, and comprising an incubation cartridge for liquid or dry culture medium respectively.

Figures 14 and 15 are views showing how the container of the device according to the invention can be perforated to reach the colonies for their sampling and their identification.

Figure 16 is a view showing the sampling of a colony on the membrane of the device according to the invention.

Figure 17 is a view showing how the incubation of the device according to the invention can be continued after the sampling of a colony.

The reservoir (1), shown in Figures 1 and 2, comprises a body (2), generally cylindrical, closed at its upper part by a reading window (3) and, at its lower part, by a filter membrane (4), located in a plane parallel to that of the reading window.

The cylindrical body (2) is fitted with a side inlet orifice (5) of the female Luer type, which can be closed by a male Luer plug (6) and whose axis is parallel to the plane of the membrane (4).

A tubular flange (7), with a larger diameter than that of the cylindrical body (2), prolongs this body downstream from the filter membrane and is fitted internally with a female threaded part (8), which can consist in particular of three female thread initiations to guarantee rapid clamping on a removable element fitted with corresponding male threads.

The connecting part between the cylindrical body (2) and the tubular flange (7) comprises in succession, from upstream to downstream, a shoulder (9), a lip seal (10) and a locking stop (11).

The shoulder (9), in the form of a circular ring with the same axis as that of the body (2), delimits the base of the container (1) to which the filter membrane (4) is sealed, in a plane perpendicular to the common axis of the body (2) and the flange (7).

The lip seal (10) in the embodiment shown in Figure 1 is in the form of a circular tab, with an intermediate diameter between those of the body (2) and of the flange (7), and with the same axis as the latter two, extending axially with the internal and external faces.

The locking stop (11), also in the form of a circular ring with the same axis as the cylindrical body (2), is intended to prevent the crushing of the circular end of the filter membrane during the screwing of the removable element to the threaded part (8) of the flange.

As shown by Figure 1, the reading window (3) is cleared of any obstruction to avoid masking the view of

the filter membrane (4).

The container (1) is made of plastic that must be transparent, pressure-resistant, and susceptible to perforation without fracture preferably laterally, if the need arises to sample a microbe colony that has developed, after incubation, on the filter membrane.

The Applicant has found that a suitable plastic for the container was a copolymer of methyl methacrylate, butadiene and styrene.

The filter membrane (4) is known and in general of plastic of the cellulose ester type, with a pore diameter that varies according to the size of the microorganisms to be retained. For commonly determined microorganisms, the pore diameter generally used is 0.45  $\mu$ m. Other filter materials, hydrophilic or hydrophobic, can be used for the retention of other microorganisms.

The filtration support (12), which completes the device according to the invention, is shown in Figures 3 and 4.

It comprises a chamber (13), generally cylindrical, fitted externally with a male threaded part (14), which may consist for example of three male threads, cooperating with the female threaded part (8) of the flange (7) of the container (1), and, if necessary, gripping components (30).

The chamber (13) is closed at its upper part by a plate (14), comprising a circular peripheral ledge (16) and a system of circular (17) and axial (18) drainage channels terminating in an axial outlet orifice (19).

The peripheral ledge (16) is axially prolonged slightly beyond the upper face of the plate (15) as shown by Figure 3 in particular, in order to form a central circular cavity serving for the reception of a disc-shaped removable porous aseptic insert (20) which rests on the top of the drainage channels.

The upper face of this insert (20), designed to enter into contact with the entire lower filtering surface of the membrane (4) to support it, when the support (12) is screwed into the container (1), lies at the same level as the upper face of the peripheral ledge (16), which has a number of fine radial slits (21) to facilitate the subsequent removal of any liquid that has infiltrated between the downstream periphery of the membrane and the surface (16), through the porous aseptic insert (20).

The connecting part between the threaded chamber (13) and the plate (15) of the filtration support (12) comprises, in the embodiment shown in Figure 1, and shown more clearly in Figure 7, an outer shoulder (22) a circular gutter (23) and a sealing cone (24) delimiting the peripheral ledge (16).

When the filtration support (12) is screwed inside the flange of the container (1), the shoulder (22) enters into contact with the stop (11) to prevent the crushing of the circular membrane (not shown in Figure 7), and the sealing cone (24) deforms the inner face of the lip seal (10) to guarantee perfect tightness between the support (12) and the container (1).

In another embodiment shown in Figure 8, the outer

shoulder (22) of the filtration support (12), not only enters into contact with the stop (11) of the container (1), but it also has a sealing cone (24) which deforms the outer face, and not the inner face, of the lip seal (10), to guarantee perfect tightness during the screwing of the support (12) into the container (1).

The embodiment shown in Figure 8 serves to perform samplings of liquids to be analyzed at pressures higher than those that can be used with the embodiment in Figure 7, and which can be as high as  $6 \cdot 10^5$  Pa, since any increase in the pressure of the liquid to be filtered tends to increase the tightness of the container on the sealing cone of the filtration support.

The plastic of the filtration support (12) may, for example, be a styrene polymer such as acrylonitrile/butadiene/styrene resin, and the insert (20) may, for example, be of sintered polyethylene.

The incubation cartridge (25), designed to complete the device according to the invention, may be a plastic cartridge for liquid (Figure 5) or dry (Figure 6) culture medium.

This cartridge (25) comprises a chamber (26), generally cylindrical, containing a culture medium (27) appropriate to the microorganism to be detected, and which is externally fitted with a male threaded part (28), which can cooperate with the female threaded part (8) of the flange (7) of the container, and consisting, for example, of three male thread initiations for one, and females for the other, to guarantee rapid locking.

The chamber (26) may also be provided with gripping components (29) and, at its top, a shoulder (37) designed to enter into contact with the stop (11) during the screwing of the cartridge (25) into the container (1).

In the cartridge for liquid culture medium shown in Figure 5, the chamber (26) has, at its upper part, a support that is convexed externally (31) and made of one piece with the chamber.

This convex support (31) is fitted with a system of feed channels connected to an axial feed orifice (32), closed by a removable plug (36).

The convex support (31) is slightly recessed with respect to its peripheral ledge to form a central circular cavity, where an absorbent pad (33) impregnated with appropriate liquid culture medium rests, and which can be protected by a strippable protective paper (34) glued to the said peripheral ledge.

The convex support (31) is connected to the upper end of the chamber (26) by a conical part (35), designed to cooperate with the lip seal (10) of the container (1), to prevent drying of the periphery of the liquid culture medium of the cartridge, screwed into the reservoir, during incubation.

The incubation cartridge for dry culture medium, shown in Figure 6, does not have a conical sealing part, but its chamber (26) is closed at each end by a removable lid (38 and 39).

The lid (38), located opposite the shoulder (37), serves to fill the cartridge, and the lid (39), which is con-

vex towards the outside, is removed during the screwing of the cartridge (25) into the container (1).

The plastic used to make the cartridge body may be polystyrene and that for the lids may be polypropylene.

The process according to the invention consists, after filling the cartridges with the suitable culture medium, of the operations required for microbiological testing directly at the sampling location of the liquid sample to be tested.

The process begins by screwing a container (1) to a filtration support (12) up to the sealing stop. The container can then withstand a filtration pressure of the liquid to be analyzed that is higher than  $3 \cdot 10^5$  Pa, in the embodiment shown in Figures 1, 3 and 7, and up to  $6 \cdot 10^5$  Pa in the embodiment shown in Figure 8.

The small male Luer plug (6) is then removed and the container (1) connected to the sample tap.

The valve of the sample tap is opened, and the desired volume of liquid to be tested is allowed to filter through, and the sample volume is collected in a beaker located downstream from the filtration support (Figure 9).

The sample tap valve is closed at the end of sampling, and the filtration unit is removed.

Filtration is terminated either by aseptically pressurizing the container by means of a syringe (40) fitted with an air filter, as shown in Figure 10, which has the advantage of expelling all the liquid present upstream, downstream and in the pores of the membrane, and which avoids any risk of dilution of the culture medium downstream from the filter membrane, or by causing a negative pressure to prevail by pumping the remnant of liquid with the aid of a syringe (40) as shown in Figure 11.

The taking of the sample having been terminated, the filtration support (12) is unscrewed and one of the cartridges (25) containing the desired culture medium is screwed in its place.

It then suffices to place the overall unit consisting of the container (1) and the cartridge (25) in the reversed position, in an incubator at the temperature and during the time required for the development of the colonies resulting from any microorganisms collected on the filter membrane (4), as shown in Figures 12 and 13.

It should be noted that the device according to the present invention also serves to take a sample of product to be analyzed by means of a vacuum source connected to the filtration support (12), such as a vacuum syringe or flask. This alternative was not available with previously known devices.

After development of the colonies, they can either be counted, as in a Petri dish, since the reading window (3) is perfectly cleared, or one of them can be identified by sampling, by perforating the container by means of an apparatus (41) designed for the purpose in order to be able to sample the desired colony with a platinum loop (42). With the container placed in a support, a cutting point with a triangular section penetrates parallel to the filter membrane into the walls of the cylindrical body

(2) of the container (1), thus creating a completely clean hole without removal of any plastic (Figures 14 and 15).

If so desired, it is possible to make several holes to make the colonies located on the surface of the filter membrane more accessible. In this case, it suffices to introduce the platinum loop (42) through the best-positioned hole to make the sampling (Figure 16). If it is desired to continue incubation, it suffices to envelop the test unit consisting of the container and the incubation cartridge in a suitable film (43) in order to isolate the container from the outside air (Figure 17).

#### Claims

1. Device for the microbiological testing of a pressurized liquid sample using a filter membrane, preferably pre-sterilized and for single use only, and comprising, upstream from the filter membrane (4), a liquid inlet in the form of an orifice (5), which can be closed by a removable plug (6), characterized in that it comprises a completely closed container (1) of transparent plastic, at the base of which a filter membrane (4) is sealed, the said container being fitted, upstream from the membrane, with a built-in reading window (13) and, downstream from the membrane, with a flange (7) comprising a lip seal (10) and a female threaded part (8).
2. Device according to claim 1, characterized in that the liquid inlet in the form of an orifice (5) is provided with an axis parallel to the plane of the membrane (4).
3. Device according to any one of the previous claims, characterized in that the container (1) comprises a locking stop (11) located between the lip seal (10) and the female threaded part (8).
4. Device according to any one of claims 1 to 3, characterized in that the lip seal (10) consists of a circular tab whose inside face guarantees tightness by cooperating with a conical part of a removable element that can be screwed into the female threaded part of the container.
5. Device according to any one of claims 1 to 3, characterized in that the lip seal (10) consists of a circular tab whose outer faces guarantees tightness by cooperating with a conical part of a removable element than can be screwed into the female threaded part of the container.
6. Device according to any one of the previous claims, characterized in that the threaded part (8) of the flange (7) of the container (1) has three female thread initiations to guarantee rapid locking.
7. Device according to any one of the previous claims, characterized in that the container (1), of which the built-in reading window (3) constituting the upper face and located in a plane parallel to that of the filter membrane (4), is cleared of any obstruction to avoid masking the view of the membrane, and can be perforated, preferably laterally, by penetration, thus making accessible the top of the filter membrane for any sampling of microbe colonies by means of a platinum loop (42).
8. Device according to any one of the previous claims, characterized in that the transparent plastic of the container (1) is a copolymer of methyl methacrylate, butadiene and styrene.
9. Device according to any one of the previous claims, characterized in that it comprises a filtration support (12) made of plastic comprising a chamber (13) fitted externally with a male threaded part (14) cooperating with the female threaded part (8) of the container (1), and an upper plate (15) fitted with a system of drainage channels (17, 18) terminating in an axial outlet orifice (19), the said filtration support (12) also comprising a sealing cone (24) cooperating with the lip seal (10) of the container (1) to prevent any infiltration or contamination from the outside on the periphery of the support during the filtration of a liquid sample to be analyzed.
10. Device according to Claim 9, characterized in that the peripheral ledge (16) of the upper plate (15) of the filtration support (12) is axially prolonged beyond the upper face of the plate (15) to form a central circular cavity serving for the insertion of a removable porous aseptic insert (20), resting on the top of the drainage channels (17, 18) and designed to enter into contact with the entire filtering surface of the membrane (4) of the container (1).
11. Device according to any one of Claims 9 and 10, taken in combination with Claim 6, characterized in that the threaded part (14) of the filtration support (12) has three male thread initiations to guarantee rapid locking on the three corresponding female threads (8) of the container (1).
12. Device according to any one of Claims 9 to 11, characterized in that the plastic of the filtration support (12) is a styrene polymer and, in particular, an acrylonitrile/butadiene/styrene resin.
13. Device according to any one of Claims 1 to 8, characterized in that it comprises an incubation cartridge made of plastic (25) comprising a chamber (26) containing a suitable culture medium of microorganisms (27) and fitted externally with a male threaded part (28) cooperating with the female



- threaded part (8) of the container (1).
14. Device according to Claim 13, characterized in that the incubation cartridge (25) comprises a support convex outward (31) receiving an absorbent pad (33) impregnated with liquid culture medium, which can be protected by a strippable protective paper (34), and in that the upper end of the chamber (26) of the cartridge displays a conical part (35) designed to cooperate with the lip seal (10) of the container (1) to guarantee tightness on the downstream periphery of the filter membrane (4) and thus to prevent any dehydration of the culture medium (27) during incubation.
15. Device according to any one of Claims 13 to 14, characterized in that the plastic of the incubation cartridge is polystyrene.
16. Process for the microbiological testing of a pressurized liquid sample by means of a filter membrane (4), characterized in that it comprises in succession the introduction of the sample to be analyzed into a device forming the subject of any one of Claims 1 to 8, in which the container (1) is screwed tight on a filtration support (12), the positive or negative pressurization of the container (1) to terminate filtration, the replacement of the filtration support (12) by an incubation cartridge (25) screwed tight into the container (1), and incubation of the combination consisting of the container and the cartridge, in the reversed position, in an incubator.

#### Patentansprüche

1. Gerät zur mikrobiologischen Untersuchung einer Druckflüssigkeits-Probe unter Benutzung einer Filtermembrane, wobei das Gerät bevorzugt im voraus sterilisiert und zum Einmalgebrauch vorgesehen ist und stromaufwärts der Filtermembrane (4) einen Flüssigkeitseinlaß in Form einer Öffnung (5) aufweist, die mit einem entfernbaren Stöpsel (6) verschlossen werden kann, dadurch gekennzeichnet, daß das Gerät einen vollständig geschlossenen Behälter (1) aus lichtdurchlässigem Kunststoff aufweist, an dessen Basis eine Filtermembrane (4) angesiegelt ist, wobei der Behälter stromaufwärts der Membrane mit einem eingebauten Ablesefenster (3) und stromabwärts der Membrane mit einem Flansch (7) versehen ist, der eine Lippendichtung (10) und ein mit einem Innengewinde versehenes Teil (8) aufweist.
2. Gerät nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Flüssigkeitseinlaß in Form einer Öffnung (5) mit einer Achse parallel zur Ebene der Membrane (4) versehen ist.
3. Gerät nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß der Behälter (1) mit einem zwischen der Lippendichtung (10) und dem mit einem Innengewinde versehenen Teil (8) angeordneten Sperranschlag (11) versehen ist.
4. Gerät nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Lippendichtung (10) aus einem kreisförmigen Vorsprung besteht, dessen Innenseite durch Zusammenwirken mit einem konischen Teil eines entfernbaren Elementes, welches in das mit dem Innengewinde versehene Teil des Behälters eingeschraubt werden kann, Dichtigkeit gewährleistet.
5. Gerät nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Lippendichtung (10) aus einem kreisförmigen Vorsprung besteht, dessen Außenseite durch Zusammenwirken mit einem konischen Teil eines entfernbaren Elementes, welches in das mit dem Innengewinde versehene Teil des Behälters eingeschraubt werden kann, Dichtigkeit gewährleistet.
6. Gerät nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß der mit einem Gewinde versehene Teil (8) des Flansches (7) des Behälters (1) zur Gewährleistung eines raschen Verschlusses drei Einführstellen am Innengewinde aufweist.
7. Gerät nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß der Behälter (1), bei dem das eingebaute Ablesefenster (3) die obere Fläche bildet und in einer Ebene parallel zu der der Filtermembrane (4) angeordnet ist, von jeglicher Störung gereinigt ist, um zu verhindern, daß die Sicht der Membrane verdeckt wird, und, bevorzugt seitlich, mittels Durchstoßen perforiert werden kann, wodurch die Oberseite der Filtermembran zur Entnahme von Proben von Mikroben-Kolonien mittels einer Platinschleife (42) zugänglich gemacht wird.
8. Gerät nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß der lichtdurchlässige Kunststoff des Behälters (1) ein Copolymer aus Methylmethacrylat, Butadien und Styrol ist.
9. Gerät nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß es eine Filtrierstütze (12) aus Kunststoff mit einer Kammer (13), welche auf ihrer Außenseite mit einem Außengewindeteil (13) versehen ist, das mit dem mit einem Innengewinde versehenen Teil (8) des Behälters (1) zusammenwirkt, und eine obere Platte (15) aufweist, die mit einem System von Drainage-Kanälen (17,18) versehen ist, welche in eine axiale Auslaßöffnung

- (19) münden, wobei die Filtrierstütze (12) auch noch einen Dichtkonus (24) aufweist, der mit der Lippendichtung (10) des Behälters (1) zusammenwirkt, um jegliche Infiltration oder Kontamination von außen auf den Umfang der Stütze während der Filtrierung einer zu analysierenden Flüssigkeitsprobe zu verhindern.
10. Gerät nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß der Umfangsrand (16) der oberen Platte (15) der Filtrierstütze (12) axial über die obere Fläche der Platte (15) hinaus verlängert ist, um eine kreisförmige zentrale Vertiefung zu bilden, die für den Einsatz einer entfernbaren, porösen, aseptischen Einlage (20) dient, die oben auf den Drainage-Kanälen (17,18) sitzt und dazu ausgebildet ist, in Kontakt mit der gesamten Filtrier-Oberfläche der Membrane (4) des Behälters (1) zu kommen.
11. Gerät nach einem der Ansprüche 9 und 10 in Verbindung mit Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß das Gewindeteil (14) der Filtrierstütze (12) drei Einührstellen am Außengewinde aufweist, um ein rasches Befestigen an den drei entsprechenden Innengewindestellen (8) des Behälters (1) zu gewährleisten.
12. Gerät nach einem der Ansprüche 9 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß der Kunststoff der Filtrierstütze (12) ein Styrol-Polymer und insbesondere ein Acrylnitril/Butadien/Styrol-Harz ist.
13. Gerät nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß es eine aus Kunststoff bestehende Inkubations-Patrone (25) aufweist, die eine Kammer (26) umfaßt, welche ein geeignetes Kulturmedium aus Mikroorganismen (27) aufweist und auf ihrer Außenseite mit einem Außengewindeteil (28) versehen ist, das mit dem mit einem Innengewinde versehenen Teil (8) des Behälters (1) zusammenwirkt.
14. Gerät nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß die Inkubations-Patrone (25) eine Stütze aufweist, die außen (31) gewölbt ist zur Aufnahme eines Absorbierkissens (33), welches mit flüssigem Kulturmedium imprägniert ist, welches mit einem abziehbaren Schutzpapier (34) geschützt werden kann, und daß das obere Ende der Kammer (26) der Patrone ein konisches Teil (35) ausbildet, das dazu ausgelegt ist, mit der Lippendichtung (10) des Behälters (1) zusammenzuwirken, um eine Dichtigkeit am stromabwärtigen Umfang der Filtermembran (4) zu gewährleisten und so eine Dehydrierung des Kulturmediums (27) während der Inkubation zu verhindern.
15. Gerät nach einem der Ansprüche 13 bis 14, da-
- durch gekennzeichnet, daß der Kunststoff der Inkubationspatrone Polystyrol ist.
16. Verfahren zur mikrobiologischen Untersuchung einer Druckflüssigkeitsprobe mittels einer Filtermembrane (4), dadurch gekennzeichnet, daß es in Abfolge die nachfolgenden Schritte aufweist: die Einführung der zu analysierenden Probe in ein Gerät, wie es Gegenstand eines der Ansprüche 1 bis 8 ist, wobei der Behälter (1) dicht auf eine Filtrierstütze (12) aufgeschraubt wird und die positive oder negative Druckbeaufschlagung des Behälters (1) zur Beendigung der Filtration dient, das Auswechseln der Filtrierstütze (12) durch eine Inkubationspatrone (25), die dicht in den Behälter (1) eingeschraubt ist, und Inkubation der aus dem Behälter und der Patrone bestehenden Kombination in umgedrehter Lage in einem Inkubator.

# Revendications

- Dispositif pour le contrôle microbiologique d'un échantillon liquide sous pression utilisant une membrane filtrante, de préférence préalablement stérilisé et destiné à une seule utilisation, et comportant, en amont de la membrane filtrante (4), une entrée de liquide sous la forme d'un orifice (5), qui peut être fermée par un obturateur amovible (6), caractérisé en ce qu'il comporte un récipient complètement fermé (1) en matière plastique transparente, à la base duquel la membrane filtrante (4) est scellée, le récipient étant pourvu, en amont de la membrane, d'une fenêtre incorporée (13) de lecture et, en aval de la membrane, d'un rebord (7) comportant un joint d'étanchéité à lèvres (10) et une partie fileté-femelle (8).
- Dispositif selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'entrée de liquide sous la forme d'un orifice (5) présente un axe parallèle au plan de la membrane (4).
- Dispositif selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le récipient (1) comporte une butée (11) de blocage placée entre le joint d'étanchéité à lèvres (10) et la partie fileté-femelle (8).
- Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que le joint d'étanchéité à lèvres (10) est constitué d'une languette circulaire dont la face intérieure garantit l'étanchéité en coopérant avec une partie conique d'un élément amovible qui peut être vissée dans la partie fileté-femelle du récipient.
- Dispositif selon l'une quelconque des revendications

- tions 1 à 3, caractérisé en ce que le joint d'étanchéité à lèvres (10) est constitué d'une languette circulaire dont la face extérieure garantit l'étanchéité en coopérant avec une partie conique d'un élément amovible qui peut être vissée dans la partie filetée femelle du réceptif.
6. Dispositif selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que la partie filetée (8) du rebord (7) du réceptif (1) comporte trois entrées de filets femelles pour garantir un blocage rapide.
7. Dispositif selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le réceptif (1), dont la fenêtre incorporée (3) de lecture constitue la face supérieure et est placée dans un plan parallèle à celui de la membrane filtrante (4), est dégagé de tout obstacle pour éviter de masquer la vue de la membrane, et peut être perforé, de préférence latéralement, par pénétration, permettant ainsi d'accéder au dessus de la membrane filtrante pour tout échantillonnage de colonies de microbes au moyen d'une boucle (42) de platine.
8. Dispositif selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que la matière plastique transparente du réceptif (1) est un copolymère de méthacrylate de méthyle, de butadiène et de styrène.
9. Dispositif selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il comporte un support (12) de filtration réalisé en matière plastique, comprenant une chambre (13) pourvue extérieurement d'une partie filetée mâle (14) coopérant avec la partie filetée femelle (8) du réceptif (1), et une plaque supérieure (15) pourvue d'un système de canaux (17, 18) d'écoulement aboutissant dans un orifice axial (19) de sortie, ledit support (12) de filtration comportant aussi un cône (24) d'obturation étanche coopérant avec le joint d'étanchéité à lèvres (10) du réceptif (1) pour empêcher toute infiltration ou contamination depuis l'extérieur sur la périphérie du support pendant la filtration d'un échantillon liquide devant être analysé.
10. Dispositif selon la revendication 9, caractérisé en ce que la nervure périphérique (16) de la plaque supérieure (15) du support (12) de filtration est prolongée axialement au-delà de la face supérieure de la plaque (15) pour former une cavité circulaire centrale servant à l'insertion d'un élément rapporté aseptique poreux amovible (20), reposant sur le dessus des canaux (17, 18) d'écoulement et conçu pour entrer en contact avec la surface entière de filtration de la membrane (4) du réceptif (1).
11. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 9 et 10, prise en combinaison avec la revendication 6, caractérisé en ce que la partie filetée (14) du support (12) de filtration comporte trois entrées de filets mâles pour garantir un blocage rapide sur les trois filets femelles correspondants (8) du réceptif (1).
12. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 9 à 11, caractérisé en ce que la matière plastique du support (12) de filtration est un polymère de styrène, et en particulier une résine acrylonitrile/butadiène/styrène.
13. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, caractérisé en ce qu'il comporte une cartouche d'incubation réalisée en matière plastique (25), comprenant une chambre (26) contenant un milieu convenable de culture de micro-organismes (27) et pourvue extérieurement d'une partie filetée mâle (28) coopérant avec la partie filetée femelle (8) du réceptif (1).
14. Dispositif selon la revendication 13, caractérisé en ce que la cartouche (25) d'incubation comporte un support à convexité (31) tourné vers l'extérieur, recevant un tampon absorbant (33) imprégné d'un milieu liquide de culture, qui peut être protégé par un papier protecteur détachable (34), et en ce que l'extrémité supérieure de la chambre (26) de la cartouche présente une partie conique (35) conçue pour coopérer avec le joint d'étanchéité à lèvres (10) du réceptif (1) afin de garantir l'étanchéité sur la périphérie d'aval de la membrane filtrante (4) et d'empêcher ainsi toute déshydratation du milieu de culture (27) pendant l'incubation.
15. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 13 et 14, caractérisé en ce que la matière plastique de la cartouche d'incubation est un polystyrène.
16. Procédé pour le contrôle microbiologique d'un échantillon liquide sous pression au moyen d'une membrane filtrante (4), caractérisé en ce qu'il comprend successivement l'introduction de l'échantillon devant être analysé dans un dispositif formant le sujet de l'une quelconque des revendications 1 à 8, dans lequel le réceptif (1) est vissé de façon étanche sur un support (12) de filtration, la mise sous pression positive ou négative du réceptif (1) pour faire cesser la filtration, le remplacement du support de filtration par une cartouche (25) d'incubation vissée de façon étanche dans le réceptif (1), et l'incubation de l'ensemble constitué du réceptif et de la cartouche, dans la position retournée, à l'intérieur d'un incubateur.

Fig.1

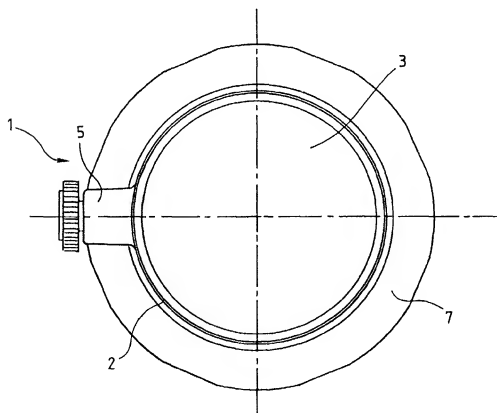
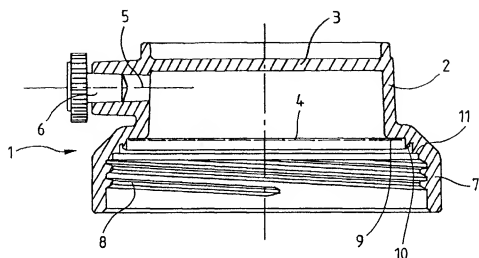


Fig.2

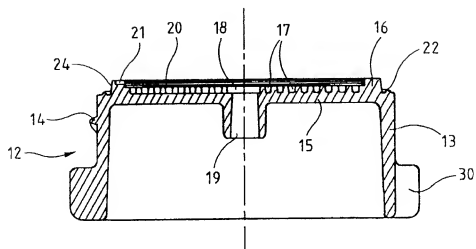


Fig.3

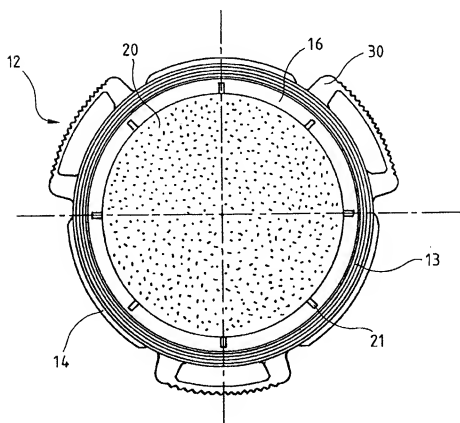


Fig.4

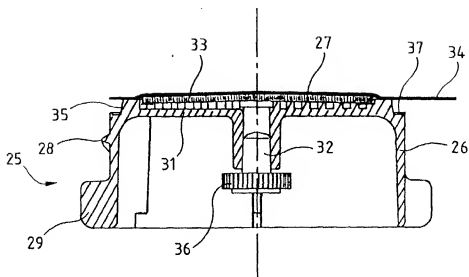


Fig.5

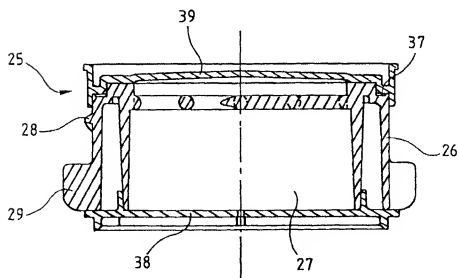
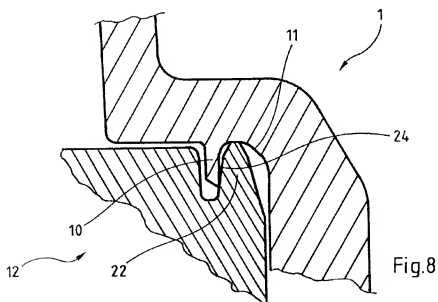
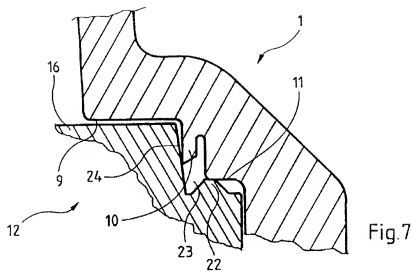


Fig.6



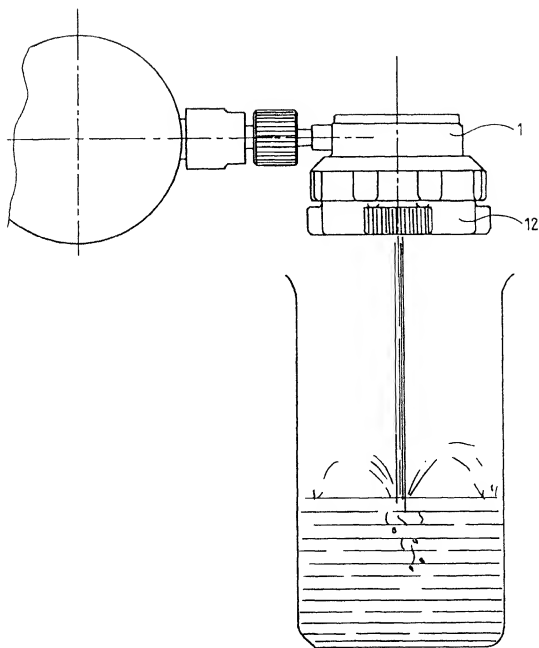


Fig.9



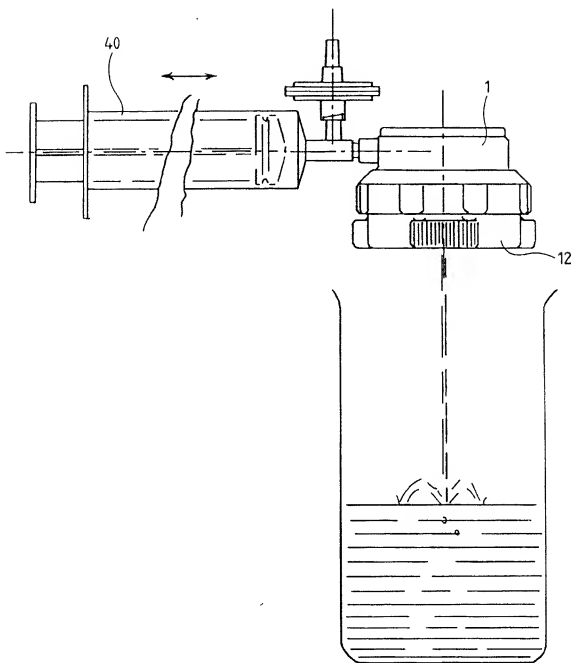


Fig.10

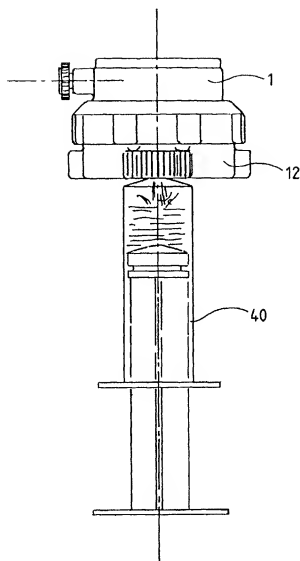


Fig.11

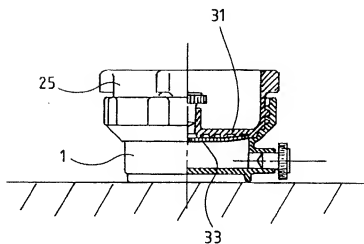


Fig.12

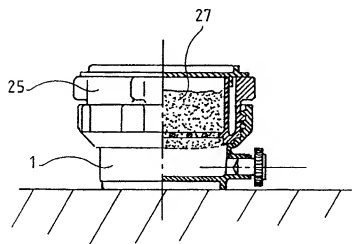


Fig.13

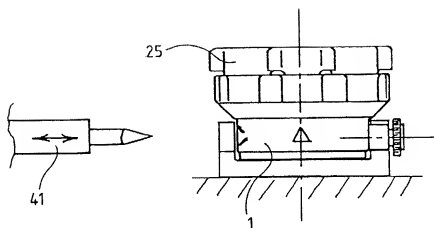


Fig.14

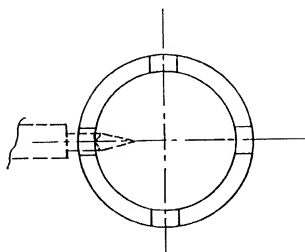


Fig.15

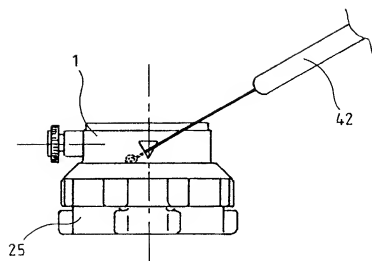


Fig.16

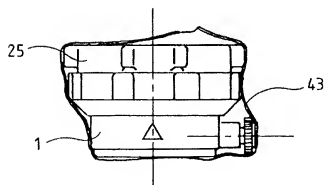


Fig.17